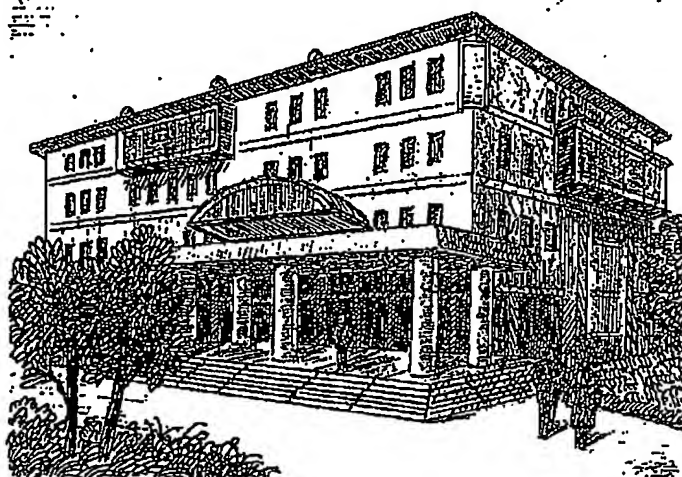


# **ATTACHMENT A**

# 大会講演要旨集

■2003年度(平成15年度)大会[東京]■



日本大学湘南キャンパス図書館

大会関連記事	巻頭
座長一言	とじこみ
一般講演要旨	1
学会賞等受賞者講演要旨	291
シンポジウム要旨	381
新製品・新技術セミナー要旨	417
人名索引	(1)
キーワード索引	(53)
.....	
出展企業誌上情報	巻末



社団法人日本農芸化学会

- 2A20p04 IL-18は消化管耐性T細胞および経口トレランスの誘導に必須である  
○辻 典子、ノバック ペルナデタ、ラチコーバ ルドミラ (生物研・生体防衛)

抑制性T細胞 (Treg) は免疫恒常性を保つ上で重要な役割を担っており、Treg細胞に異常が生じるとアレルギー・自己免疫疾患の原因となる。私たちは、食物や腸内細菌に曝される消化管免疫環境の特殊性に着目し、マウスに抗原を経口投与した際に消化管パイエル板でTregが誘導されること、パイエル板由来Tregクローンは炎症性サイトカイン、とりわけIL-18に対して高い応答性を持つことを報告してきた。今回、Tregと経口トレランス誘導においてIL-18が*in vitro*でどのような役割を担うのか、IL-18ノックアウト (KO) マウスを用いて解析を行った。高容量のβ-ラクタログロブリン (BLG) を経口投与したBLG/BLGマウスのパイエル板細胞には抗原特異的Treg細胞 (*in vitro*抗原産生抑制) が誘導されたが、IL-18KOマウスでは同細胞が欠損していた。また、BLG経口投与により野生型マウスでは抗原特異的免疫応答が著しく低下していたが、IL-18KOマウスでは高い免疫応答が観察された。以上、自然免疫シグナルのひとつであるIL-18が、消化管におけるTreg細胞とトレランスの誘導に必須の役割を担うことが明らかとなった。

- 2A20p05 抗原の経口摂取後に*in vivo*抗原刺激で誘導されるT細胞応答  
○遠田 俊子、日比 壮樹、八村 敏志、上野川 修一 (東大院農生科・応生化、免疫学系)

【目的】抗原の経口摂取により抗原特異的免疫応答の低下 (経口免疫寛容) が誘導される。本研究では抗原の経口摂取が体内における抗原特異的T細胞応答に及ぼす影響を調べるため、あらかじめ抗原を経口投与したマウスに抗原特異的T細胞を移植して*in vivo*抗原刺激に対する応答を解析した。  
【方法・結果】1日前にBLGまたはOVAを経口投与したBALB/cマウスにCD45.1ラベルしたOVA特異的T細胞受容体トランスジェニックマウス (DO10マウス) 由来CD4<sup>+</sup>T細胞を移植し、2週間後にOVAをアジュバントとともに腹腔に投与し、移植したOVA特異的CD4<sup>+</sup>T細胞のOVA免疫後の増殖を測定した。その結果、OVA経口投与群に移植したT細胞はOVA経口投与群に比べてOVA免疫後の増殖が減少した。OVA特異的CD4<sup>+</sup>T細胞をOVA免疫2週間後に移植した場合にも同様に増殖の減少がみられた。またOVAを経口投与したBALB/cマウスにOVA特異的CD4<sup>+</sup>T細胞を移植したところ、移植したOVA特異的CD4<sup>+</sup>T細胞の割合はOVA経口投与群に比べて高かった。以上よりOVA経口投与群では経口抗原を提示した抗原提示細胞がOVA特異的CD4<sup>+</sup>T細胞の抗原特異的免疫応答を阻害している可能性が示された。

- 2A20p06 抗原提示細胞 (APC) により提示されている抗原の提示系の確立とこれを用いた*in vivo*における抗原提示の解析  
○市川 晋太郎、八村 敏志、佐野 あゆ子、加地 文弘、伊勢 夢、戸塚 理、上野川 修一 (東大院農生科・応生化、東大院農生科・食と健康、(明理))

【目的】APCは抗原をT細胞に提示することで免疫応答や免疫寛容を誘導する。しかし、投与された抗原が*in vivo*で抗原提示しているAPCを直接調べることは少ない。本研究では、ビオチン化したOVAを用いて抗原を提示しているAPCを抽出できる実験系を確立し、免疫寛容条件下で投与した抗原を提示しているAPCの解析を目的とした。  
【方法】BALB/cマウスに皮下注射により3週間のビオチン化OVAを投与し、1週間後にリンパ節を取り出した。フローサイトメトリを用いてそれとAPCが提示している抗原を、蛍光標識したストロプアビジンにより抽出した。  
【結果】T細胞やマクロファージでは抗原由来の蛍光をほとんど検出できなかった。それに対してCD11c陽性の樹状細胞では抗原由来の蛍光を用いた。このことからビオチン化OVAを用いることにより抗原提示の解析が可能であり、抗原投与後からのリンパ節では樹状細胞が抗原を提示していることが示された。現在、抗原を提示している樹状細胞の解析を進めている。

- 2A20p07 哺乳類からのフラクトオリゴ糖の経口摂取が腸管IgA抗体の分泌ならびに抗体分泌因子 (polymeric immunoglobulin receptor) 発現に与える影響  
○中村 吉孝、野坂 晶子、鈴木 美沙、高橋 敬、矢島 高二、坂 昌 (明治大学農学部、日本大学獣医学部)

【目的】哺乳類、哺乳類からのフラクトオリゴ糖の摂取はパイエル板細胞の活性化を介してマウスの腸管組織中のIgA抗体含量を増加させることを報告した。今回、腸管へのIgA抗体分泌量を測定すると共に抗体分泌因子の腸管内阻害因子を検討した。【方法】フラクトオリゴ糖 (明治製菓製) を0.5%添加した飼料 (FOS (0)) または無添加の飼料 (FOS (-)) を生後3日目の母マウスに自由摂取させた。35日齢で仔マウスを哺乳させた母マウスを35日齢まで観察して投与した。麻酔下、仔マウスの回盲末端に腸管ループを形成して20分後に腸管内容物を回収し、そのIgA抗体含量をELISAで測定した。また、腸管組織の組織凍結断面を調製し抗体分泌因子の発現量を測定した。  
【結果】FOS (0) 群のIgA抗体分泌量および抗体分泌因子の発現量はFOS (-) 群に比べて約2倍に有意に増加した。哺乳類からのフラクトオリゴ糖の摂取は腸管組織中のIgA抗体含量の増加と抗体分泌因子の発現増加を介して腸管へのIgA抗体分泌を促進することが示された。

- 2A20p08 拘束ストレス負荷時の*Bifidobacterium*菌株成分投与による腸管免疫系への影響  
○中保 博樹、細野 明、木村 貞司、中村 良 (日大生食科・食料工)

【目的】腸管免疫系ではIgA分泌が感染防御などに重要な役割を担っているが、ストレスによるその免疫応答への影響についてはほとんど明らかになっていない。我々はマウスに拘束ストレスを負荷し、プロバイオティクスとしての効果が期待される*Bifidobacterium pasteurianus* (T41) (BT) 菌株成分投与による腸管免疫系への影響について検討した。  
【方法・結果】経口BT/マウス (7週齢) に連続5日間拘束ストレスを負荷した結果血中コルチコステロン濃度は対照群に比べて有意に増加したが、腸内容物中BTは量、パイエル板細胞に産生されたIgA濃度は対照群と比べて有意に低下した。マウスにBTを投与した (L. BT) 飼料を自由摂取し、連続5日間拘束ストレスを負荷したところ、血中コルチコステロン濃度の上昇が抑制され、腸内容物中BTは量、パイエル板細胞のIgA、IFN- $\gamma$ 産生ともストレス負荷による低下が抑制された。パイエル板細胞ではBT投与によりストレス負荷時においてもIFN- $\gamma$ 産生が高濃度で維持されたことから、ストレス負荷時のBT投与は腸管免疫系の低下を抑制できることが推察された。

- 2A20p09 仔マウスのインフルエンザ感染に及ぼす*Lactobacillus casei* Shirota株経口投与の影響  
○保井 久子、清島 潤子 (ヤクルト中研)

【目的】乳幼児はインフルエンザに罹患しやすく高齢者とともにハイリスクグループに挙げられている。そこで、免疫調節作用をもつ*Lactobacillus casei* Shirota株 (Ls) を乳母マウスに経口投与することにより、インフルエンザ感染が軽減されるかを検討した。  
【方法と結果】週齢の異なるBALB/cマウスにインフルエンザウイルス (IFV, 10<sup>6</sup>) を下気道感染させると、仔 (2, 3週齢) マウスの生存率は、成鼠マウスに比べて有意に低下を示した。そこで、生後3日目から6週間、Ls生菌を3回/週、胃ソングで経口投与後、IFVを気道感染させ、3日目の鼻液分泌中のIFV量を測定した。その結果、Ls投与群 (Ls群) のIFV量は、コントロール群に比べて有意に減少した。さらに、上気道感染3日目に鼻液を採取して死亡率と生存率を測定したところ、Ls群の死亡率の有意な減少と生存率の有意な上昇が認められた。また、Ls群の感染3日目の肺組織の細胞浸透性リンパ細胞のIL-12産生量は有意に増加していた。以上のことから、Lsは仔マウスの気道の細胞免疫を強化し、インフルエンザ感染を軽減することが示唆された。

- 2A20p10 インスリン依存性糖尿病の発症を誘導する自己免疫応答を抑制する乳酸菌の検出  
○櫻本 康、長谷川 陽子、木元 広実、水町 功子、岡本 隆史 (東大・生食工、農研機構・畜研研)

【目的】マウスのインスリン依存性糖尿病は、自己抗原であるGAD (Glutamic Acid Decarboxylase) の52-64に対するT細胞の自発的な応答が原因とされている。誘発されると考えられている。本研究ではこの自己免疫応答を抑制可能な乳酸菌を見出すことを試みた。  
【方法】あらかじめ*Lactobacillus casei* subsp. *121 (Ls) 650あるいは*Lactobacillus acidophilus* JM112株を経口投与したマウスの脾臓細胞をGAD52-64により3日間刺激し、IL-2を添加してさらに3日間培養した (一次抗原刺激)。これらの細胞を回収・洗浄後、GAD52-64、52-64、52-64、52-64存在下、2週間培養した (二次抗原刺激)。その培養上清中に認められるIFN- $\gamma$ の産生量をELISAにて測定・比較した。  
【結果】乳鼠飼料投与の11-13週齢のマウスの脾臓細胞は、一次および二次抗原刺激としてそれぞれ、GAD52-64、52-64、52-64あるいは52-64を添加した場合にのみ、有意にIFN- $\gamma$ を産生した。この対照群と比較して、JM112株を経口投与したところ、IFN- $\gamma$ の産生量が有意に低下したものの、650株投与群ではそれが低下することが明らかとなった。*

- 2A20p11 抗アレルギー効果のある乳酸菌*Lactobacillus paracasei* ATCC 33420株の選抜  
井上 小夜、新井 敏雄、西田 聡、○原田 大介 (キリンビール・基盤研、小岩井乳業・開発七)

【目的】抗アレルギー効果の強い乳酸菌を選抜することを目的として、Tb1/Tb2 バランスアッセイを行い、解析を行った。  
【方法と結果】BALB/cマウスをday0、day5と2週間アルブミン (OVA) で抗原感作し、脾臓を調製した。様々な乳酸菌株及びユグロバクテリウムを添加したOVA含有地盤で、単独した脾臓を7日間培養した。その培養上清中のTb1サイトカインとしてIL-12と、Tb2サイトカインとしてIL-4を測定した。その結果、最も強いIL-12産生量を示し、最も強いIL-4抑制作用を示す株として*Lactobacillus paracasei* ATCC 33420株を見出した。スクリーニング結果は、多量に高濃度結果となり、乳酸菌のTb1/Tb2バランスに与える効果は濃度レベルではなく、株レベルで全く違うことが分かった。また、腹腔マクロファージについて乳酸菌のIL-12産生誘導を抑制したところ、脾臓での結果と変わらなかったことから、乳酸菌がマクロファージをターゲットにしていることが示唆された。さらにTb2シグナルの抑制を行ったところ、ATCC 33420株によって活性化することが示唆された。

(Translation)

Published March 5, 2003

**ABSTRACTS FOR ANNUAL MEETING  
ANNUAL MEETING 2003, TOKYO**

(Table of contents omitted)

**JAPAN SOCIETY FOR BIOSCIENCE, BIOTECHNOLOGY,  
AND AGROCHEMISTRY**

- 2A20p11 "Selection of Lactic acid bacteria having anti-allergic effect,  
*Lactobacillus paracasei* KW3110"  
Sayo INOUE, Toshio FUJII, Satoshi NISHIDA<sup>1</sup>, Daisuke FUJIWARA  
(Central Laboratories for Key Technology, Kirin Brewery Co., Ltd.;  
<sup>1</sup>Technical Development Center, Kolwai Dairy Products Co., Ltd.)

**[Purpose]** For the purpose of selecting lactic acid bacteria having strong anti-allergic effect, Th1/Th2 balance assay was performed and the results were analyzed.

**[Methods and Results]** BALB/c mice were sensitized with ovalbumin (OVA) as an antigen at day 0 and day 6 to prepare splenocytes. The isolated splenocytes were cultured for seven days in various OVA-containing media to which various lactic acid bacterial strains and bacteria isolated from yogurt had been added. The culture supernatants were measured for IL-12 as Th1 cytokine and IL-4 as Th2 cytokine. As a result, *Lactobacillus paracasei* KW3110 strain was identified as having the highest IL-12 productivity and the highest IL-4 repressing activities. The screening gave diverse results, from which it was understood that the effect of lactic acid bacteria on the Th1/Th2 balance varies greatly from strain to strain, rather than from species to species. Further, activity of lactic acid bacteria to induce IL-12 production by peritoneal macrophages was studied to be revealed that the results were not different from those with the splenocytes, which suggests that the macrophages are the target cells of lactic acid bacteria. Results of NF- $\kappa$ B signal measurement suggested that the signal was activated by KW3110 strain.